Aus dem Anatomischen Institut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. H. Bluntschli

Topochemische Untersuchungen über Glykogen-, Kalium- und Aschegehalt im Warmblüterherzen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae

der Universität Bern

vorgelegt von

Franz Deucher

von Steckborn (Thurgau)

Akademische Verlagsgesellschaft
Becker & Erler Kom.-Ges., Leipzig

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. Hintzsche von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 10. Februar 1943.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. A. v. Muralt

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. H. Bluntschli

Topochemische Untersuchungen über Glykogen-, Kalium- und Aschegehalt im Warmblüterherzen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae

der Universität Bern

vorgelegt von

Franz Deucher

von Steckborn (Thurgau)

Akademische Verlagsgesellschaft
Becker & Erler Kom.-Ges., Leipzig

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus „Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung“
Band 49, Heft 3, 1941
Akademische Verlagsgesellschaft Becker & Erler, Kom.-Ges., Leipzig

Meinem Vater

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547621_0080

Topochemische Untersuchungen über Glykogen-, Kalium- und Aschegehalt im Warmblüterherzen.

Von

Franz Deucher.

(Mit 8 Textabbildungen.)

Inhaltsübersicht.

Seite

Einleitung 401
Befunde 402
Allgemeines über das Vorkommen von Glykogen im Herzen 403
Glykogen im Reizleitungssystem 403
Glykogen in der Triebmuskulatur 406
Allgemeines über die Kaliumverteilung im Herzmuskel 409
Kalium in den Reizleitungsfasern 410
Kalium in der Triebmuskulatur 411
Allgemeines über das Aschenbild des Herzmuskels 414
Das Aschenbild der Reizleitungsfasern 415
Das Aschenbild der Triebmuskulatur 417
Auswertung der Befunde 420
Zusammenfassung 423
Schrifttum 424

Einleitung.

Die Ergebnisse der mikroskopischen und der biochemischen Erforschung des Muskelgewebes lassen sich zur Zeit noch nicht in befriedigender Weise in Einklang miteinander bringen. Zweifellos haben während der letzten zwei Jahrzehnte die chemischen Studien zur Aufklärung der Vorgänge bei der Muskelverkürzung mehr beigetragen als die histologischen Untersuchungen mittels der üblichen mikroskopischen Technik. Nicht einmal über die Veränderung des Querstreifungsbildes bei der

Kontraktion hat sich eine allgemein anerkannte Ansicht durchsetzen können (v. Möllendorff 1940). Unter diesen Umständen sind die vereinzelten Versuche zur histochemischen Erforschung des Muskelgewebes besonders beachtenswert. Sie stellen eine Verbindung der beiden verschiedenen Arbeitsrichtungen her und lassen erneute Fortschritte der mikroskopischen Beobachtungen erhoffen.

Unter den topochemisch nachweisbaren Substanzen verdienen im Muskelgewebe das Glykogen und das Kalium besondere Berücksichtigung; Glykogen, weil es als Energiequelle dient, Kalium, weil es infolge seines reichlichen Vorkommens in der Muskulatur für diese gewiß nicht ohne Bedeutung ist. Einen Hinweis darauf bietet unter anderem der mehrfach ermittelte Befund, daß nach abgelaufener Tätigkeit regelmäßig ein nicht unbedeutender Kaliumverlust des Muskels festgestellt werden kann (Fenn 1937, Bureau 1937, Somogyi und Verzár 1940).

Glykogen, Kalium und auch der Gesamtaschengehalt sind schon Gegenstand histochemischer Untersuchung im Muskelgewebe gewesen. Die Befunde der verschiedenen Autoren weichen jedoch zum Teil voneinander ab, außerdem sind die genannten Substanzen stets unabhängig voneinander betrachtet worden, was eine erneute vergleichende Untersuchung berechtigt erscheinen läßt.

Die histochemischen Arbeitsweisen haben ferner den Vorteil, auch solche Bauelemente einer Erforschung zugänglich zu machen, die verstreut in anders zusammengesetzte Gewebe oder Organe eingelagert sind. Aus diesem Grunde konnte die Herzmuskulatur zum Gegenstand der vorliegenden Untersuchung gewählt werden, um neben dem Bau der quergestreiften, kontraktilen Substanz auch noch die Reizleitungsfasern bearbeiten zu können.

Befunde.

Der Beschreibung der einzelnen Beobachtungen schicke ich zunächst einige kurze allgemeine Angaben über die angewandten Arbeitsweisen voraus. In Vorversuchen hat sich ergeben, daß von Gefrierschnitten unfixierter Herzen sowohl für die Veraschung wie für den Kalium- und den Glykogennachweis nur unvollkommene Präparate gewonnen werden konnten. Die Ursachen der Schwierigkeiten bei der Verarbeitung nativen Materiales ließen sich nicht restlos aufklären, sie liegen vermutlich vor allem im hohen Wassergehalt des Muskelgewebes. Das beim Auftauen der Gefrierschnitte frei werdende Wasser löst gewisse Salze und das Glykogen und führt dadurch zu Substanzverlusten oder mindestens zu Verlagerungen, die völlig unregelmäßig erfolgen und sich daher jeglicher Beurteilungsmöglichkeit entziehen.

Um den Nachweis der Verteilung des Glykogens, der Gesamtasche und besonders auch des Kaliums am gleichen Material und möglichst in aufeinanderfolgenden Schnitten auszuführen blieb als einzige Fixationsmethode die Anwendung von absolutem Alkohol. Kleinere Herzen (Ratte, Meerschweinchen) ergaben in toto eingelegt gute Präparate, größere Herzen (Kalb) bedurften einer entsprechenden Zergliederung und Teilung. Die Stücke sind über Benzol in Paraffin eingebettet, außer einer leichten Verdichtung der Oberflächen ist der Erhaltungszustand der Gewebe befriedigend.

Allgemeines über das Vorkommen von Glykogen im Herzen.

Während über die Glykogenverteilung in der Skeletmuskulatur aus den letzten Jahren mehrere Veröffentlichungen vorliegen (v. Studnitz 1936, Rojas und Resta 1938, Feyel 1938, Gendre 1938), ist die Herzmuskulatur weniger Gegenstand erneuter Untersuchungen gewesen. Die Arbeiten von Blume (1934) und von Noll und Becker (1936) behandeln das Glykogenvorkommen im menschlichen Herzen nur mengenmäßig und grob topographisch, die Lagerung innerhalb der Muskelfasern selbst wird überhaupt nicht erörtert.

Die gleiche kritische Einstellung, die gegenüber den älteren Befunden an der Skeletmuskulatur berechtigt war, ist aber auch den Behauptungen über die Glykogenverteilung im Herzmuskel gegenüber notwendig. Aus Mönckebergs Zusammenstellung der älteren Befunde (1924) geht klar hervor, daß der Glykogengehalt des menschlichen Herzmuskels sowohl örtlich als auch mengenmäßig verschieden sein kann. Außer den Mitteilungen von Arnold (1909) und Neukirch (1910) vermag aber Mönckeberg ebensowenig wie Häggqvist (1931) genauere Beobachtungen anzuführen. Häggqvist (1931, S. 59) hat jedoch schon an den Deutungen Arnolds in vorsichtiger Weise Kritik geübt; entgegen dessen Meinung, daß die Glykogengranula im Herzmuskel durch Assimilation an den *I*-Körnern entstehen, führt er nämlich an, daß Holmgren *I*-Körner im Herzen überhaupt nicht hat finden können. Das von Häggqvist (1931, S. 163) geforderte fortgesetzte Studium über das Verhalten des Glykogens während der verschiedenen Stadien der Kontraktion ist für die Skeletmuskulatur in den oben genannten Arbeiten aus den letzten Jahren zum Teil schon durchgeführt, für die Herzmuskulatur ist es in der hier vorgelegten Untersuchung begonnen.

Zum Glykogennachweis ist die Methode von Bauer (1933) der Bestschen Carminfärbung vorgezogen worden. Die Bauersche Arbeitsweise (Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure nach vorheriger Chromierung der Schnitte) hat den Vorteil, als chemische Reaktion auf Polysaccharide ohne irgendeine Differenzierung abzulaufen, sie fällt daher stets gleichartig aus. Die von Bauer selbst und von Wallraff und Beckert (1939) angeführten weiteren reagierenden Substanzen spielen im Herzen keine besondere Rolle. Nach den Ergebnissen der vergleichenden Beobachtungen an nach Best und nach Bauer behandelten Präparaten darf die bei der Bauerschen Reaktion fuchsinrot gefärbte Substanz als Glykogen bezeichnet werden, zumal auch der Ausfall der Speichelprobe dieselbe Schlußfolgerung erlaubt. Vom Beginn der Untersuchung an war klar, daß mit dem Befund einer »Alkoholflucht« des Glykogens gerechnet werden mußte.

Glykogen im Reizleitungssystem.

Die spezifischen Faserbündel in der Herzmuskulatur, denen für die Erregungsleitung besondere Bedeutung beigemessen wird, machen durch die Art ihrer Ausbreitung eine quantitativ-chemische Untersuchung nur in Näherungswerten möglich, wie Noll und Becker bei der Nachprüfung der Befunde von Buadze und Wertheimer betonen. Bekannt ist auf Grund von Analysen und nach den Ergebnissen des

Ausfalles der Jodreaktion und der Färbung mit Bestschem Carmin einzig die Tatsache ihres gegenüber der Triebmuskulatur erhöhten Glykogengehaltes, ein Befund, der in jeder Beschreibung der Reizleitungsfasern erwähnt wird und der geradezu als Mittel zu ihrer Erkennung angewandt werden kann. Eine neue Bestätigung dieser offenbar allgemein anerkannten Beobachtung würde an sich überflüssig sein, zum Vergleich mit den Befunden über die Kaliumverteilung und über die Aschenanordnung im Reizleitungssystem ist aber die Abbildung der Glykogenverteilung im selben Untersuchungsmaterial notwendig.

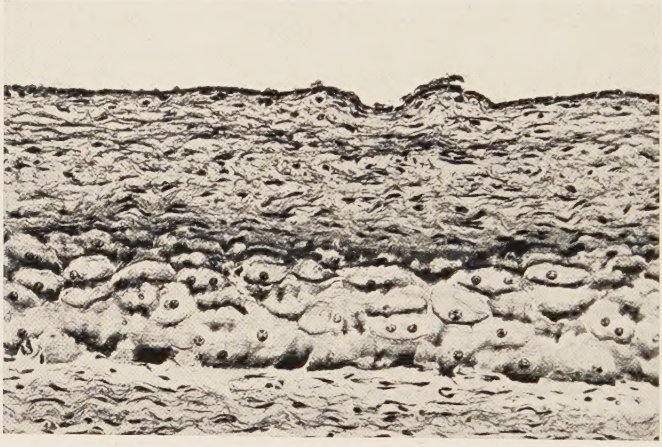

Abb. 1. Herz, Kalb; Purkinje-Faden längs. Alkoholfixation, 7½ μ. Polysaccharidreaktion nach Bauer. Eisentrioxyhämatein. Vergr. 180fach. »Alkoholflucht« des Glykogens in den großen Zellen der sarkoplasmareichen Reizleitungsfasern.

Häufig untersucht und in seinen verschiedenen Teilen makroskopisch leicht auffindbar ist besonders das Reizleitungssystem des Kalbes, auf das sich auch die hier mitgeteilten Beschreibungen beziehen. Die in Abb. 1 bei 180facher Vergrößerung wiedergegebene Aufnahme eines Teiles von einem Purkinje-Faden soll besonders zum Vergleich mit den später folgenden Abbildungen dienen; sie zeigt in der oberen Bildhälfte das Endokard, darunter in drei- bis vierfacher Schichtung die großen, scharf begrenzten Zellen der Reizleitungsfasern. Des weiteren läßt die Aufnahme die typische »Alkoholflucht« des Glykogens erkennen. Die nur in geringer Menge vorhandenen Myofibrillen bieten offenbar der Glykogenverschiebung kein Hindernis. Der von der freien Oberfläche her eingedrungene Alkohol hat das Glykogen jeweils bis zur nächstgelegenen Zellgrenze verdrängt, es hat sich in den Zellen überall in dem nach dem unteren Bildrand zu gelegenen Abschnitt angehäuft,

nur kleinste Mengen von Glykogengranula finden sich noch fein verteilt im übrigen Zelleib. Trotz dieser Glykogenverlagerung kann man aber bei stärkerer Vergrößerung gar nicht selten noch Stellen im Reizleitungssystem finden, wo auch das Querstreifungsbild als Folge der besonderen Glykogenverteilung klar erkennbar ist. Arnold (1909) stellte schon das Vorhandensein von Querstreifung in Glykogenpräparaten des Reizleitungssystemes vom Kalb fest, er hat solche Gebiete auch abgebildet, im speziellen Fall aber keine genauen Lagebeziehungen des Glykogens angegeben.

Bei Huftieren kommen nach Arnold im subendokardialen Gewebe neben den breiten auch noch schmale sarkoplasmareiche Fasern vor, die sich durch etwas zahlreichere und besser geordnete Fibrillen auszeichnen. Diese schmalen sarkoplasmareichen Fasern zeigen Übergänge einerseits zu den breiten eigentlichen Reizleitungsfasern, andererseits zur gewöhnlichen Triebmuskulatur. In meinen Präparaten tritt das Querstreifungsbild nach Ausführung der Glykogenreaktion in den sarkoplasmareichen Fasern in zwei Typen auf, die offenbar vom Kontraktionszustand der betreffenden Fasern abhängen. Im linken Schenkel des Hisschen Bündels finden sich z. B. aus Zellreihen zusammengesetzte Fasern, deren Muskelfächer 1,8 μ hoch sind; das Glykogen liegt darin in Form doppelter Körnchenreihen, die durch eine sehr schmale helle Linie getrennt sind (Abb. 2 A). Auf Anschnitte eines Helikoids im oberen Bildviertel sei besonders hingewiesen. Die glykogenhaltige Schicht ist bei Abblendung mit aller Sicherheit als dem Q-Streifen zugehörig zu erkennen. An anderen Orten derselben Präparate, wo die durchschnittliche Höhe der Muskelfächer nur 1,6 μ beträgt, ist dagegen die Glykogenverteilung völlig abweichend; es liegt dort als einfache feine, scharf begrenzte Linie in der Höhe der Zwischenscheibe Z, deren Verbindung mit der Bindegewebshülle der Muskelfasern sicher zu erkennen ist. Solche Befunde scheinen vor allem Arnold vorgelegen zu haben. Als sehr wahrscheinlich ist anzunehmen, daß Z hier in der Umwandlung zum Kontraktionsstreifen begriffen ist, wie weiter unten bei der Erörterung der Befunde an der Triebmuskulatur ausführlicher dargetan wird. Die Lokalisation des Glykogens auf der Höhe von Z ist sicher, da Q' an solchen Stellen bei Nachfärbung der Präparate mit Eisentrioxyhämatein als feine graue Linie erkennber ist. Glykogen ist darin nicht gefunden worden.

Zusammenfassend ist also festzuhalten, daß in den Reizleitungsfasern des Kalbsherzens nach Alkoholfixation eine ausgiebige Verschiebung des Glykogens eintritt, daß aber trotzdem noch Bilder der Quer-

streifung erkennbar bleiben, die das Glykogen teils in der Zwischenscheibe bzw. dem Kontraktionsstreifen, teils in der anisotropen Querscheibe lokalisiert zeigen[1].

Glykogen in der Triebmuskulatur.

In der Triebmuskulatur liegen die stärksten Glykogenanhäufungen im Sarkoplasma nahe den Kernenden; im übrigen lassen sich nach Alkoholfixation grundsätzlich dieselben Befunde wie im Reizleitungssystem erheben. Um die in solchen Präparaten gemachten Beobachtungen zu sichern und zu erweitern, sind für die Glykogendarstellung in der Triebmuskulatur noch einige andere Fixationsarten angewandt worden, so absoluter Alkohol mit Dextrose gesättigt und Formol-Alkohol mit Dextrose gesättigt, beide verursachen gleichfalls Glykogenverlagerung und stellen also keine Verbesserung der Methodik dar. Gebraucht wurden ferner die Fixationsflüssigkeit nach Bouin-Allen ohne und mit Dextrosesättigung sowie Heidenhains Susa mit Dextrose gesättigt. Diese drei letztgenannten Kombinationen erwiesen sich als gut geeignet für die nachfolgende Glykogendarstellung, vor allem ist die Verlagerung wesentlich geringer als nach Alkoholfixation.

Zunächst sei festgestellt, daß die Triebmuskulatur der einzelnen Herzabschnitte bei den insgesamt bearbeiteten zehn Ratten recht unterschiedlichen Glykogengehalt aufweist. Die Vorhöfe und besonders die Herzohren sind mehrfach auffällig glykogenreich gefunden worden. Des weiteren ist hervorzuheben, daß auch bei bester Fixation die Glykogenverteilung in der Triebmuskulatur desselben Herzabschnittes ungleichmäßig gefunden wird. Am deutlichsten erkennt man das auf Querschnitten, wo im gleichen Gesichtsfeld einzelne Fasern stark, andere schwach, wieder andere überhaupt nicht glykogenhaltig sind.

Mit Arnold (1909, Abb. 18) übereinstimmend habe ich häufig in den Herzmuskelfasern das Glykogen in Form von scharf begrenzten Querreihen gesehen, die aus einzelnen, dicht nebeneinander liegenden Körnchen bestehen (Abb. 2C). Arnold hat diese Querreihen in der Höhe der Zwischenscheiben lokalisiert, was ich bestätigen kann, nur glaube ich eher, daß an Stelle von *Z* besser vom Kontraktionsstreifen *C* gesprochen werden sollte. Während man manchmal in solchen mit Hämalaun gegengefärbten Herzmuskelfasern zwischen je zwei glykogen-

[1] Ganglienzellen, die in der Nachbarschaft der Reizleitungsfasern nicht selten vorkommen, waren stets glykogenfrei; da neuerdings wenigstens in manchen sensiblen Ganglienzellen durch Schabadasch (1939) Glykogen nachgewiesen worden ist, muß dieser Befund hier mit erwähnt werden.

haltigen Streifen keine weitere Querlinie mehr erkennen kann, sieht man in anderen Fällen deutlich einen feinen, violett gefärbten schmalen Querstreifen zwischen je zwei scharf begrenzten roten, d. h. glykogenhaltigen Linien. Die Deutung eines solchen Bildes wird leicht, wenn ähnlich wie in der der Abb. 2C zugrunde liegenden Stelle am rechten Bildrand die Verbindung der glykogenhaltigen Kontraktionsstreifen mit der häutchenartigen Umhüllung der Muskelfaser deutlich sichtbar

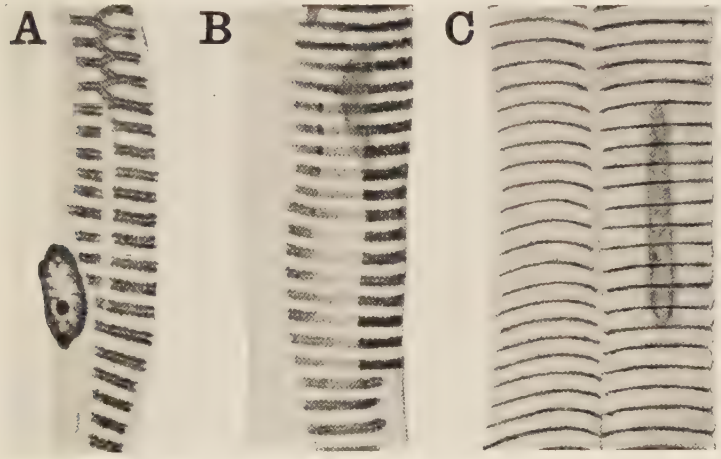

Abb. 2A. Herz, Kalb; subendokardial gelegene schmale sarkoplasmareiche Faser im Längsschnitt. Alkoholfixation, 7½ μ. Polysaccharidreaktion nach BAUER. Eisentrioxyhämatein. Vergr. 1600fach. Das Glykogen liegt in Form feiner Doppelreihen in den *Q*-Streifen. Am oberen Bildrand ist der Schrägschnitt durch ein Helicoid zu beachten.

Abb. 2B. Herz, Ratte; Triebmuskelfaser längs. Alkoholfixation, 5 μ. Polysaccharidreaktion nach BAUER. Hämalaun. Vergr. 1600fach. Auch in den fibrillenreichen gewöhnlichen Herzmuskelfasern findet sich das Glykogen häufig in den *Q*-Streifen.

Abb. 2C. Herz, Ratte; Triebmuskelfasern längs. Fixierungsgemisch nach BOUIN-ALLEN mit Dextrose gesättigt, 7½ μ. Polysaccharidreaktion nach BAUER. Eisentrioxyhämatein. Vergr. 1600fach. Während gewisser Phasen des Verkürzungsvorganges liegt das Glykogen in den Kontraktionsstreifen, die sich am Orte der Zwischenscheiben ausbilden. Am rechten Bildrand ist das feine, die Muskelfaser umhüllende Häutchen in der Höhe der Kontraktionsstreifen immer deutlich etwas eingezogen, wodurch die genaue Lokalisierung des Glykogens ermöglicht wird.

ist. Die feinen violett gefärbten schmalen und stets glykogenfreien Querstreifen sind dann als *Q'* (nach PLENK) anzusehen.

Ein weiteres Bild von dem Zustand, der sich zwischen dem Auftreten von Segmenten der Zusammensetzung *ZIQIZ* und *CQ'C* findet, ist in der Abb. 2B gezeigt. Die in der Herzmuskelfaser vorhandenen glykogenhaltigen Querstreifen folgen in regelmäßigen Abständen aufeinander, sie sind dicker als die früher gezeigten *C*-Streifen und bestehen aus zwei parallelen, dicht nebeneinander liegenden Querreihen, die durch eine feine glykogenfreie Schicht getrennt sind. ARNOLD bildete – wie

erwähnt — solche Stellen in Abb. 19 aus dem Herzen des Kaninchens ab und deutet sie als an beiden Seiten von *Z* gelegene Granulareihen. Einen Beweis dafür hat er nicht erbracht, seine Auffassung, daß die Glykogengranula durch Anlagerung an *I*-Körner gebildet werden, ist schon von Häggqvist angezweifelt worden. Gleich wie Th. Feyel und Gendre für den Skeletmuskel gezeigt haben, halte ich für den Herzmuskel die Deutung Arnolds für unrichtig und glaube, daß die Doppelreihen in *Q* liegen, die glykogenfreie oder mindestens sehr glykogenarme Schicht zwischen beiden Granulareihen entspricht dann in ihrer Lage dem Hensenschen Streifen bzw. dem Mittelstreifen *M*, die Benennung müßte je nach dem Verkürzungszustand der betreffenden Faser gewählt werden (siehe dazu Plenk 1928, S. 26).

Diese Deutung ist in einer mit Hämalaun nachgefärbten Faser nicht leicht zu beweisen, färbt man aber nach Bauers Vorschrift behandelte Präparate mit Eisentrioxyhämatein nach, so kann man leicht die Zwischenscheibe *Z* erkennen oder wenigstens die anisotrope Querscheibe *Q* stellenweise noch etwas dunkler gefärbt sehen, beide Befunde ermöglichen eine genaue Lokalisierung der breiten glykogenhaltigen Streifen in *Q*.

Fasern mit sehr hohen, also völlig entspannten Segmenten kommen in den fixierten Herzpräparaten nur ganz selten und auf kleinste Stellen beschränkt vor. Über den Glykogengehalt der dann ganz breiten *Q*-Streifen habe ich noch keine Beobachtungen machen können. Auch über die Frage, ob das Glykogen intrafibrillär oder in den als *Q*-Körner bezeichneten Sarkosomen liegt, habe ich noch keine sichere Entscheidung treffen können. Nach Häggqvist hat Holmgren ausdrücklich angegeben, daß die *Q*-Körner nicht aus Glykogen bestehen, andererseits soll Regaut an derselben Stelle, wo Holmgren *Q*-Körner beobachtet hat, bei Hunden und Kaninchen das Vorhandensein von Mitochondrien nachgewiesen haben, die nach seiner Meinung für die Glykogenablagerung von Bedeutung sind. Beide Beobachtungen würden einander widersprechen, die Frage nach der Lokalisation des Glykogens, wenigstens soweit es in der Höhe von *Q* vorkommt, muß also noch weiter verfolgt werden. Die Aufstellung einer geschlossenen Reihe von Angaben über Menge und Lage des Glykogens in den Herzmuskelfasern während der verschiedenen Phasen des Verkürzungsvorganges erweist sich ebenfalls vorläufig als unmöglich, besonders weil die Höhe der Muskelsegmente keinen Anhalt dafür bietet, ob sich eine Faser im Zustand zunehmender Verkürzung oder Entspannung befindet; fortgesetzte Untersuchungen an Skeletmuskeln verschiedener Art werden auch für diese Teilfragen eher zu gesicherten Ergebnissen führen.

Zusammenfassend kann als sicher festgestellt gelten, daß das Glykogen in der Triebmuskulatur des Herzens in der Zwischenscheibe *Z* bzw. im Kontraktionsstreifen *C* und im anisotropen Querstreifen *Q* vorkommen kann, daß jedoch niemals in den genannten Streifen nebeneinander und gleichzeitig Glykogen nachweisbar ist.

Allgemeines über die Kaliumverteilung im Herzmuskel.

Nach einer Angabe von Keller (1932) wandert Kalium unter biologischen Bedingungen nach der Anode; zur Erklärung dieses Vorganges führt er die Möglichkeit einer Komplexbindung des Kaliums an Eiweiß oder Zucker an. Vergleichende Untersuchungen über die Lage des Glykogens und des Kaliums müßten zur Klarstellung dieser Frage beitragen können, sie bilden, wie einleitend erwähnt, eine der hier bearbeiteten Aufgaben.

Aus dem Schrifttum ist ersichtlich, daß das Kalium in der quergestreiften Muskulatur in bestimmte Strukturen eingelagert ist; seit Macallums ersten Beschreibungen (1905, 1908), die sich auf die Skelet- und die Herzmuskulatur beziehen, gilt vor allem die *Q*-Scheibe als Kaliumträger. Schulze und Zschau (1935) nennen daneben auch noch die Zwischenscheibe kaliumhaltig. Das Kalium liegt nach diesen Feststellungen also an den gleichen Orten, wo sich nach den oben beschriebenen Befunden auch das Glykogen nachweisen läßt. Macallum hatte ferner schon an die Möglichkeit einer Änderung der Kaliumverteilung durch die Kontraktionsvorgänge gedacht, das Fehlen verkürzter Fasern in seinen Präparaten von Warmblüterherzen verhinderte jedoch entsprechende Untersuchungen.

Die Methode zum histochemischen Kaliumnachweis durch Kobaltnatriumhexanitrit ist von Macallum ursprünglich zum Gebrauch an nativem Untersuchungsmaterial angegeben. Sie ist seither mehrfach auch an fixiertem Material angewandt worden (nach Formolfixation von Schulze und Zschau 1935, nach Fixation in 95%igem Alkohol von Marza 1936). Marza folgend ist für die vorliegende Untersuchung die Reaktion zum Kaliumnachweis gegenüber Macallums Vorschriften etwas abgewandelt und an nicht aufgeklebten Paraffinschnitten ausgeführt worden. Das Reagens ist nach der auch für die quantitative analytische Untersuchung gebräuchlichen Vorschrift von Kramer und Tisdall hergestellt, der Reagensüberschuß wurde mit 50%igem Alkohol ausgewaschen. Bei der Überführung des Kobaltkaliumhexanitrits in Kobaltsulfid ist das Schwefelammonium nur in Form von Dämpfen in der feuchten Kammer — also ohne direkte Berührung mit den Schnitten — angewandt worden. Im Blindversuch hat sich ferner nachweisen lassen, daß Eisen nicht als störender Faktor (durch Bildung von Schwefeleisen in der zweiten Reaktionsphase) von Bedeutung ist. Die noch immer in neueren Arbeiten (z. B. Lison 1936) weitergeführte Angabe, daß auch Kreatin mit dem Kaliumreagens eine Verbindung eingeht, ist von Macallum selbst schon 1932 zurückgezogen worden, er hatte bei seinen früheren Untersuchungen nur unreines Kreatin zur Verfügung. Diese Feststellung erscheint mir gerade hinsichtlich der Untersuchung der Muskulatur besonders erwähnenswert, da damit eine vielfach für möglich gehaltene Fehlerquelle ausgeschaltet ist.

Kalium in den Reizleitungsfasern.

Bei der weitgehenden Übereinstimmung in der Glykogenverteilung und der Kaliumanordnung, die aus den neueren Beobachtungen und älteren Schrifttumsangaben für die Skeletmuskulatur abzuleiten ist, ließ der Ausfall der Kaliumreaktion im Reizleitungssystem besonders wichtige Befunde erhoffen, vor allem hinsichtlich der Frage der möglichen Verschiebung der kaliumhaltigen Substanzen. Tatsächlich gibt die Macallumsche Reaktion zum Kaliumnachweis Bilder, die in jeder Beziehung denen von der Glykogenlage und — wie gleich hier festgestellt

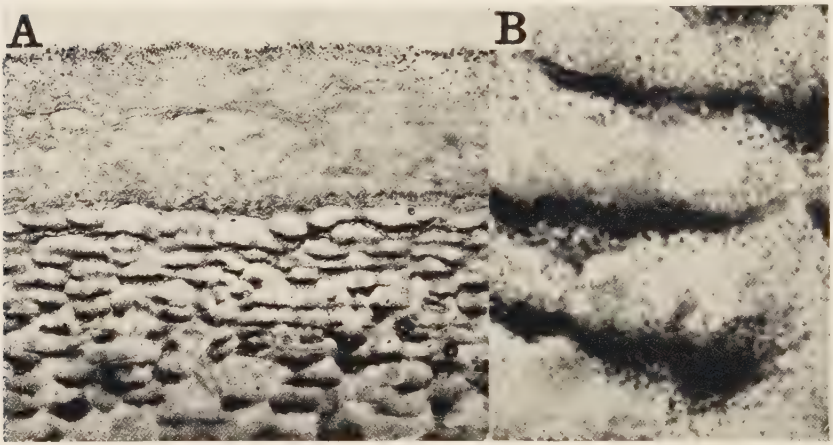

Abb. 3A. Herz, Kalb; Purkinje-Faden längs. Alkoholfixation. 7½ μ. Kaliumreaktion nach Macallum. Vergr. 180fach. Positiver Kaliumnachweis in Form schwarzer Kristalle, die in den Zellen des Reizleitungssystems die gleiche Verschiebung erfahren haben wie das Glykogen in Abb. 1.
Abb. 3B. Ausschnitt aus Abb. 3A bei 1000facher Vergrößerung.

sein mag — denen von der Aschenanordnung entsprechen. Zum Beweis diene die bei 180facher Vergrößerung angefertigte Übersichtsaufnahme der Kaliumverteilung in einem Purkinje-Faden (Abb. 3A). Die für den positiven Reaktionsausfall bezeichnenden schwarzen Kristalle sind in der oberen Bildhälfte, dem Endokard, annähernd gleichmäßig verteilt, eine geringgradige Vermehrung findet sich nur entlang der freien Oberfläche, sie entspricht dem Endothel. In der unteren Bildhälfte, die die Zellen des Reizleitungssystems zeigt, ist das Kalium wieder gegen die von der freien Oberfläche abgekehrten Zellgrenzen verschoben und dort angehäuft. Querschnitte durch einen solchen Purkinje-Faden lassen mit aller Sicherheit erkennen, daß es sich bei diesem Befund um ein Fixierungsergebnis handelt, denn dort ist die Verlagerung allseitig gegen das Innere des Fadens hin erfolgt. Einige der das Vorkommen von

Kalium beweisenden Kristalle bleiben auch hier noch fein verteilt im Zelleib erhalten (Abb. 3B), wie auch schon für das Glykogenbild beschrieben wurde. Eine derartige Kaliumverlagerung ist meines Wissens noch von keinem Autor in irgendeinem Organ gefunden worden; sie spricht dafür, daß das Kalium hier in einem besonderen Zustand vorliegt, wobei wegen der gleichsinnig mit dem Glykogen erfolgenden Verschiebung an eine engere Beziehung zwischen diesen beiden Stoffen gedacht werden muß.

Trotz der durch die Fixation bedingten Verlagerung ist in den Präparaten zum Kaliumnachweis die Querstreifung in beiden Arten der sarkoplasmareichen subendokardialen Fasern erkennbar; ähnlich wie für den Glykogennachweis sind dafür jedoch die schmalen sarkoplasmareichen Fasern besonders günstig, vielleicht wegen ihres etwas höheren Fibrillengehaltes. Die Querstreifung tritt durch die Kaliumanordnung entweder in Form von feinen schmalen Linien oder von Doppelreihen auf, die dann durch eine sehr dünne kaliumfreie Schicht getrennt sind. Beide Befunde habe ich in verschiedenen sarkoplasmareichen Fasern erheben können, in denen die Höhe der Muskelfächer 1,7—1,8 μ beträgt. Diese Typen der Kaliumverteilung gleichen den von den früheren Untersuchern für die Muskulatur überhaupt beschriebenen Befunden, ich wage jedoch auf Grund der Beobachtungen am Reizleitungssystem nicht zu entscheiden, ob sie ein Ausdruck verschiedenen Kontraktionszustandes oder nur unterschiedlichen Kaliumgehaltes der betreffenden Fasern sind. Auch die genaue Lokalisation des Kaliums läßt sich in den Reizleitungsfasern nicht mit Sicherheit vornehmen; da die Befunde über die Kaliumverteilung in den sarkoplasmareichen Fasern mit denen in der Triebmuskulatur weitgehend übereinstimmen, mögen diese deshalb zunächst hier ihren Platz finden, ehe eine Beurteilung der Kaliumanordnung erfolgt.

Kalium in der Triebmuskulatur.

Die häufig beobachteten Unterschiede in der Zusammenlagerung der schwarzen Kristalle, die das Vorhandensein von Kalium kennzeichnen, können örtliche Mengenunterschiede des Kaliums bedeuten, sie können aber auch eine Folge der mehr oder weniger dichten Zusammendrängung des Kaliums während der verschiedenen Verkürzungsphasen sein. Eine aufmerksame Durchsicht der Präparate ließ an mehreren Stellen Befunde erheben, die beweisen, daß tatsächlich durch den Kontraktionszustand Unterschiede in der Kaliumanordnung in den Muskelfasern hervorgerufen werden können. Im Herzen finden sich gelegent-

lich Gebiete, wo zwei benachbarte Faserabschnitte — durch einen Glanzstreifen getrennt — in verschiedenem Grad verkürzt sind. An solchen Grenzstellen haben regelmäßig die Gebiete mit niedrigeren Muskelsegmenten auch eine dichtere Kristallzusammenlagerung, also anscheinend höheren Kaliumgehalt als die schwächer kontrahierten Faserabschnitte mit höheren Muskelsegmenten. Von einem wirklich nachweisbaren Unterschied kann aber nicht gesprochen werden, wahrscheinlich ist, daß nur die dichtere Zusammendrängung des Materials den höheren Kaliumgehalt vortäuscht.

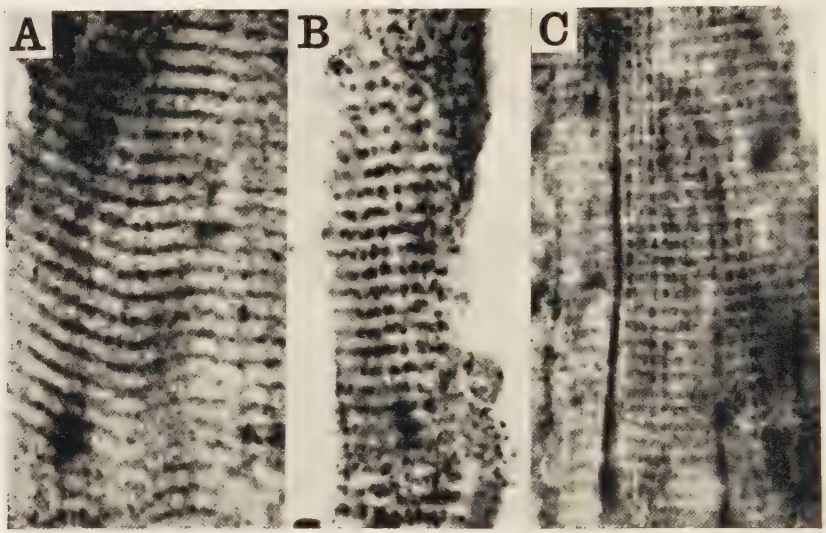

Abb. 4. Herz, Ratte; Triebmuskulatur längs. 5 μ. Kaliumreaktion nach MACALLUM. Vergr. 1600fach. In A sind die Kontraktionsstreifen kaliumhaltig, das Bild ist vergleichbar mit der Glykogenverteilung in Abb. 2C. In B und C geben die Q-Streifen positive Kaliumreaktion (zum Teil deutlich in feinen Doppelreihen), das Kalium liegt also am gleichen Ort wie das Glykogen (Abb. 2B).

Die Verteilung des Kaliums in verschiedenen Funktionsstadien der Muskulatur ist in Abb. 4 durch einige Mikrophotographien bei 1600facher Vergrößerung wiedergegeben. In Abb. 4A bietet sich die positive Kaliumreaktion in Form von fast geschlossenen, nicht immer scharf begrenzten Querreihen über die ganze Faserbreite dar; sie sind als Kontraktionsstreifen bzw. Zwischenscheiben in Umwandlung zu Kontraktionsstreifen zu deuten und können in Parallele zu den Glykogenbefunden gestellt werden, wie sie in Abb. 2C wiedergegeben wurden. In der Abb. 4B sind die dunklen kaliumhaltigen Querreihen höher als in der der Abb. 4A zugrundeliegenden Faser und nicht immer gleich-

mäßig zusammengesetzt; mehrfach heben sich den Fibrillen entsprechende Längsreihen stärkerer Reaktion deutlich ab. Stellenweise wird auch schon eine Gliederung der dunklen, kaliumpositiven Streifen in zwei Querreihen erkennbar, ferner kann manchenorts in den hell gebliebenen Scheiben der Muskelfasern eine Unterteilung durch einen feinen kaliumhaltigen Streifen beobachtet werden. Noch deutlicher werden diese Befunde in der Abb. 4C. Die das Vorhandensein von Kalium beweisenden schwarzen Kristalle sind dort einerseits — den Fibrillen entsprechend — in Längsreihen geordnet, andererseits bilden sie aber auch quer zur Muskelfaser regelmäßige Streifen. Die Längsreihen sind in gleichen Abständen unterbrochen, da die Kristalle jeweils nur in der Höhe der *Q*-Streifen vorkommen. Auch die Querreihen sind nicht einheitlich, sie erscheinen vielmehr in Stücke zerteilt, da die Muskelfibrillen etwas auseinandergewichen sind. Außerdem sind die Querreihen ganz regelmäßig durch einen feinen kaliumfreien Streifen in zwei Kristallagen unterteilt, der Befund hat sein Gegenstück in dem in Abb. 2B gezeigten Bild von der Glykogenverteilung.

So klar einerseits die Unterschiede in der Kaliumverteilung sind, so schwierig ist andererseits die Deutung dieser Befunde. Sichere Schlüsse über den Kontraktionszustand einer Muskelfaser können ja selbst aus der Höhe der Muskelsegmente nicht immer gezogen werden; am ehesten sind noch die Stadien der maximalen Verkürzung und der völligen Entspannung zu erkennen, die für die Ratte etwa durch die Werte 1,2—1,3 μ und 2,6—2,8 μ bestimmt sind. Alle Segmenthöhen zwischen diesen Werten können entweder in die Phase zunehmender Verkürzung oder aber abnehmender Spannung fallen; solange dafür sichere Kriterien noch ausstehen — und das ist, wie schon betont wurde, heute noch der Fall —, ist eine völlig befriedigende Deutung der Beobachtungen nicht möglich. Auch zu den im Handbuch der mikroskopischen Anatomie von Häggqvist ausführlich dargelegten Befunden von Holmgren ist vorläufig eine Parallele nicht zu ziehen. Ob es sich bei dem Vorkommen von Kalium in der Zwischenscheibe und im anisotropen *Q*-Streifen um Materialverschiebungen innerhalb des Muskelsegmentes handelt, oder ob Kalium in bestimmten Phasen des Verkürzungsvorganges aus den Muskelfasern aus- und während anderer Phasen wieder eintritt, ist aus den histochemischen Präparaten nicht zu entscheiden. Sehr auffällig sind aber die hier erstmals nachgewiesenen Übereinstimmungen zwischen Kalium- und Glykogenvorkommen: neben der durch die Alkoholfixation bedingten gleichsinnigen Verschiebung beider Substanzen in den sarkoplasmareichen Fasern ist noch neu erwiesen, daß die Kontrak-

tionsstreifen bzw. die Zwischenscheiben und der anisotrope *Q*-Streifen sowohl kalium- wie glykogenhaltig sind. In weiteren histologischen und histochemischen Untersuchungen über den Verkürzungsvorgang wird man jedenfalls dieser Parallelität Beachtung schenken müssen.

Allgemeines über das Aschenbild des Herzmuskels.

Einen allgemeinen Überblick über Vorkommen und Lage der anorganischen Substanzen in der Muskulatur gewinnt man am zuverlässigsten durch die Veraschungsmethode. Mehrere Untersucher haben, wie später noch zu erwähnen sein wird, auf diese Weise übereinstimmend festgestellt, daß die anorganischen Bestandteile des Skelet- und des Herzmuskels vorzugsweise im *Q*-Streifen liegen. Einer Ergänzung bedürfen diese Beobachtungen noch in zwei Richtungen. Einmal muß wieder der mögliche Einfluß der Fixation auf die Aschenverteilung geprüft werden, zum anderen ist bei den bisherigen Untersuchungen auf den jeweiligen Kontraktionszustand der Muskulatur noch zu wenig Rücksicht genommen worden.

Für die Mikroveraschung wurden Schnitte von $2^1/_2$—$5\,\mu$ Dicke auf Paraffinum liquidum aufgezogen, in der Wärme gestreckt und nach Absaugung der überschüssigen Paraffinmenge direkt unter Zutritt von Luft verbrannt. Die verwandten Höchsttemperaturen schwanken zwischen 520° und 650° C, die genauen Angaben sind bei den Einzelbefunden angeführt. Zur Dunkelfelduntersuchung wie für die Herstellung der mikrophotographischen Abbildungen wurde der Cardioid-Kondensor (Zeiss) benutzt.

Die Frage nach einer möglichen Salzverlagerung durch die Fixation in absolutem Alkohol ist mehrfach erhoben, aber niemals endgültig beantwortet worden. Das einschlägige Schrifttum ist von Hintzsche (1938, S. 74—75) zusammengestellt. Danach finden sich im Schrifttum einerseits Angaben über völlig übereinstimmende Befunde bei Veraschung von nativen Gefrierschnitten und von Paraffinschnitten fixierten Materials, andererseits wird aber hervorgehoben, daß nach Fixation die Aschestruktur klarer erkennbar sei. Der letztgenannte Befund dürfte wenigstens zum Teil seine Erklärung in der Salzanreicherung finden, die eine Folge der durch die Fixation bedingten Gewebsschrumpfung ist. Während mit dieser Schrumpfwirkung wohl ganz allgemein gerechnet werden muß, scheint einseitige Salzverschiebung durch den eindringenden Alkohol bisher nicht beobachtet worden zu sein. Aus theoretischen Überlegungen hat Bethe (Diskussionsbemerkung zu Gans) schon 1932 auf die Bedeutung dieser Möglichkeit hingewiesen, und ganz kürzlich noch hat Liesegang (1940) auf die Wichtigkeit der Klarstellung dieser Frage aufmerksam gemacht. Offensichtlich verhalten sich die verschiedenen Gewebe und Organe diesbezüglich nicht gleich; tatsächlich ließen sich vielfach trotz ausdrücklich darauf gerichteter Untersuchungen keine durch die Alkoholdiffusion bedingten Verlagerungen der anorganischen Substanzen feststellen. Zur Erklärung dieses Befundes hat Herrmann (1932) im Sinne von Bechhold darauf verwiesen, daß die Grenzflächen zwischen den Gewebselementen größere Verschiebungen verhindern.

Die grundsätzliche Richtigkeit der Bedenken von Bethe und Liesegang wird jedoch durch eine Einzelbeobachtung im Herzmuskel der Ratte erwiesen, die in der Abb. 5 mikrophotographisch wiedergegeben ist. Das Bild zeigt außerdem die von gewöhnlichen mikroskopischen Präparaten bekannte Erscheinung, daß die Glanzstreifen wie Zellgrenzen wirken. Der Alkohol ist — auf das Bild bezogen — von oben und links her eingedrungen und hat einen großen Teil der anorganischen Stoffe innerhalb der Muskelfasern nach unten und rechts verschoben. Die Kernasche ist von der Verlagerung nicht betroffen, das Querstreifungsbild ist wenigstens andeutungsweise noch erhalten. Die Glanzstreifen

Abb. 5. Herz, Ratte; Triebmuskulatur längs. Alkoholfixation. 2½ μ. Aschenbild nach Verbrennung in Luft bei 550° C. Vergr. 550fach. Verlagerung eines Teiles der Asche (nach unten und rechts) entsprechend der Richtung des eindringenden Alkohols.

sind nicht durch Besonderheiten des Mineralgehaltes gekennzeichnet; ihr durch Vergleich mit Kontrollpräparaten sichergestelltes Vorkommen ergibt sich nur aus den Aschehäufungen, die teils quer, teils schräg zur Faserrichtung verlaufend einseitig den Glanzstreifen anliegen. Der Befund solcher durch die Fixation bewirkten Verschiebung der anorganischen Stoffe in der Herzmuskulatur ist selten und auf kleine, oberflächennahe Gebiete der Präparate beschränkt, er ist hier nur der grundsätzlichen Wichtigkeit wegen mitgeteilt worden.

Das Aschenbild der Reizleitungsfasern.

Überraschende Befunde bot die Untersuchung veraschter Präparate vom Reizleitungssystem. Während in der Triebmuskulatur Verschiebungen der anorganischen Substanzen durch den zur Fixation gebrauchten Alkohol nur ganz nahe der Oberfläche beobachtet wurden, ist in den Spodogrammen ganz regelmäßig in allen Reizleitungsfasern

eine hochgradige Verdrängung der Aschen festzustellen. Die Abb. 6A zeigt eine dem Glykogenbild (Abb. 1A) entsprechende Stelle eines veraschten PURKINJE-Fadens bei ebenfalls 180facher Vergrößerung. Das obere Bilddrittel gibt das Endokard wieder; im mittleren Drittel liegen — hier in sieben- bis achtfacher Schicht — die Zellen der Reizleitungsfasern, von denen jede die Asche zusammengedrängt an der Zellbegrenzung zeigt, die dem unteren Bildrand zugekehrt ist. Bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 6B) erweist sich, daß nicht alle aschegebenden Sub-

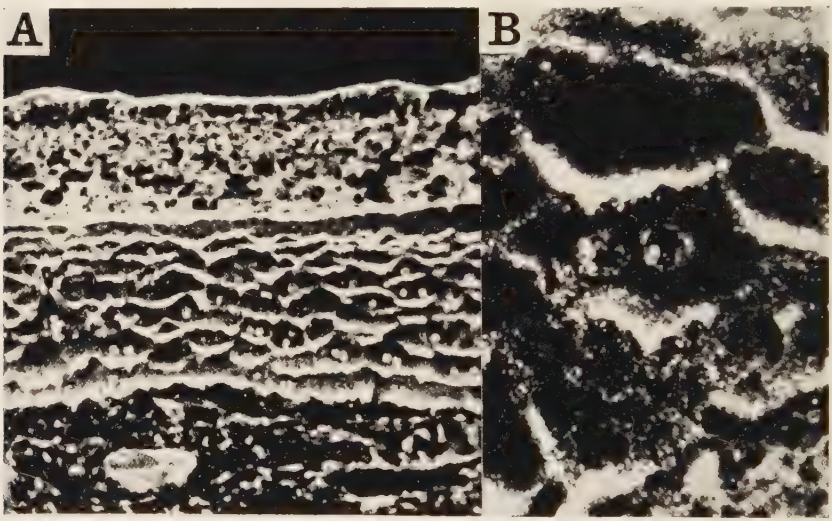

Abb. 6A. Herz, Kalb; PURKINJE-Faden längs. Alkoholfixation. 2½ μ. Aschenbild nach Verbrennung in Luft bei 520° C. Vergr. 180fach. In den Reizleitungsfasern (mittleres Bilddrittel) hat sich die Asche nach der von der Oberfläche abgekehrten Seite der Zellen verschoben ganz gleich wie das Glykogen (Abb. 1) und das Kalium (Abb. 3A).

Abb. 6B. Ausschnitt aus Abb. 6A bei 1000facher Vergrößerung.

stanzen eine Verlagerung erfahren haben, denn im ganzen Zelleib ist eine feine Granulierung erhalten, die auf dem hier wiedergegebenen Ausschnitt vielleicht zum Teil den Fibrillen entspricht. Verschiebungen der Asche innerhalb der blasigen Kerne ähnlich denen, die KRUSZYŃSKI (1938) in Kernen von Plattenepithelien beschrieben und abgebildet hat, konnten im Herzen nicht beobachtet werden. Wie beim Glykogen und beim Kalium liegt also ein Befund vor, der auf Alkoholflucht beruht, der aber nicht alle veraschungsfähigen Substanzen in den Zellen betrifft. Insbesondere muß hervorgehoben werden, daß auf Längsschnitten des Reizleitungssystems die Querstreifung der Fibrillen nach Veraschung noch vielerorts klar erkennbar ist. Sowohl im PURKINJE-

Faden wie im linken Schenkel des Hisschen Bündels konnte das Querstreifungsbild mikrophotographisch festgehalten werden, wobei interessant ist, daß in einem Präparat auch Unterschiede in der Höhe der Muskelfächer benachbarter Zellen des Reizleitungssystems deutlich in der Aschenverteilung zum Ausdruck kommen. Bei einer durchschnittlichen Höhe der Muskelsegmente von 1,2 μ liegen die stark aschehaltigen Bänder im Kontraktionsstreifen. Das Aussehen solcher Stellen gleicht dem später in Abb. 8C von der Triebmuskulatur gezeigten Verkürzungszustand.

Das Aschenbild der Triebmuskulatur.

An weitaus den meisten Stellen des Herzmuskels läßt sich das Querstreifungsbild auch nach der Veraschung fixierten Materials klar und anscheinend ohne Verschiebung der anorganischen Substanzen erkennen. Eine genaue Deutung insbesondere auch hinsichtlich der Unterschiede bei den verschiedenen Phasen des Verkürzungsvorganges ist bisher nicht gelungen; offensichtlich haben alle früheren Beobachter ihren Beschreibungen Stellen möglichst klarer Strukturierung der Aschen im Muskel zugrunde gelegt. Tschopp (1929), Scott (1932, 1933) und Kruszyński (1938) nennen den anisotropen *Q*-Streifen aschereich; zum Teil weisen sie auch auf die Tatsache hin, daß die Querscheibe *Q* (nach Scott besonders deutlich im Herzmuskel) gelegentlich aus zwei getrennten feinen Aschereihen besteht und daß auch die Zwischenscheibe *Z* als feiner Aschestreifen sichtbar sein kann. Kruszyński hat die gleiche Beobachtung bei Untersuchungen an Skeletmuskelfasern gemacht, er hebt ferner hervor, daß die isotrope Substanz bei 400° C verbrannt deutlich aschereicher ist, als wenn die Erhitzung auf 500° C gesteigert wurde. Am Herzmuskel der Ratte und des Meerschweinchens läßt sich dieselbe Beobachtung machen. Scott und Packer (1939) haben mit dem besten zur Zeit anwendbaren Fixationsverfahren, der Trocknung im gefrorenen Zustand, gleichfalls im *I*-Streifen sehr fein verteilte Asche von bläulicher Farbe festgestellt und hervorgehoben, daß in dieser Beziehung ein Gegensatz zu den Befunden nach Fixation in Formol-Alkohol besteht.

Die Klarheit des Querstreifungsbildes hängt aber zweifellos nicht nur von der bei der Veraschung angewandten Temperaturhöhe und Fixationsart, sondern auch von der Kontraktionsphase der betreffenden Stelle ab. Die Schwierigkeiten einer Beurteilung des Verkürzungszustandes der Muskelfasern im mikroskopischen Präparat sind bekannt, und mehrfach ist erwähnt worden, daß sich eine einheitliche Auffassung

der funktionellen Veränderungen noch nicht herausgebildet hat. Meinen Beobachtungen im mit Eisenhämatoxylin gefärbten Kontrollschnitt und im Aschenbild sind am besten die Befunde von Plenk (1928) vergleichbar.

Zwei Beispiele für die tatsächlich vorhandenen Unterschiede im Querstreifungsbild veraschter Präparate sind in der Abb. 7 bei 1000-facher Vergrößerung zusammengestellt. Die Fasern stammen aus dem gleichen Schnitt, sie lagen ganz nahe benachbart im Kammerseptum. In beiden Fällen handelt es sich um Grenzstellen, wo zwei Abschnitte von verschiedenem Verkürzungszustand unter Einfügung eines Glanzstreifens zusammenstoßen. Vom Beschauer aus gesehen ist die linke

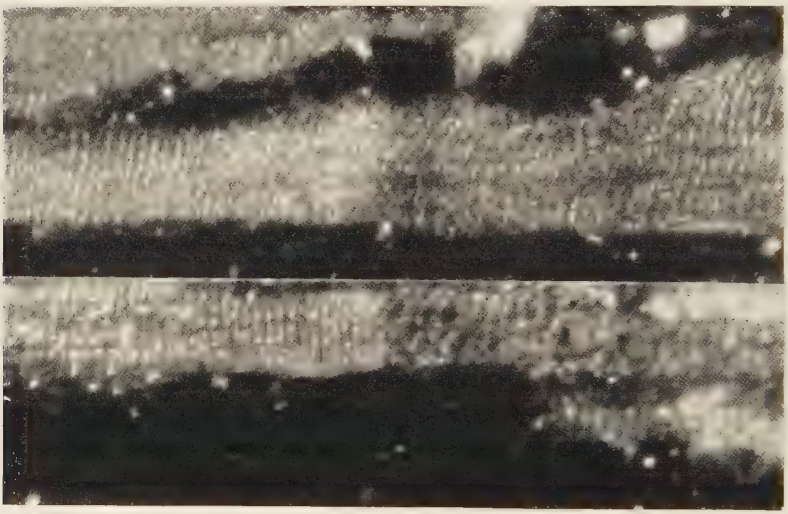

Abb. 7. Herz, Ratte; Triebmuskulatur längs. Alkoholfixation. 3 μ. Aschenbild nach Verbrennung in Luft bei 650° C. Vergr. 1000fach. Zwei Herzmuskelfasern mit deutlichem Wechsel des Verkürzungszustandes. Die scheinbare Ascheanreicherung im kontrahierten Faserabschnitt (linke Bildhälfte) ist nur Folge der Materialzusammendrängung. Die Asche liegt im Kontraktionsstreifen, außerdem ist stellenweise eine feinere Lage anorganischer Substanz als Rest der anisotropen Querscheibe erkennbar.

Hälfte der Faser heller, d. h. anscheinend aschereicher als der nach rechts fortgesetzte Teil der Faser. In Wirklichkeit beruht der Unterschied aber wohl — ebenso wie beim Kalium — weniger auf einem höheren Gehalt an Asche als auf deren dichterer Zusammenlagerung; die Muskelfächer sind im linken Teil der Fasern deutlich niedriger als im rechten. Die Unterschiede erscheinen in μ ausgedrückt nicht sehr groß, sie zeigen aber doch klar die Differenz im Grade der Verkürzung. In der unteren schmalen Faser sind die Muskelfächer links 1,3—1,4 μ hoch, rechts

messen sie dagegen 1,75 μ in der oberen breiteren Faser sind die entsprechenden Zahlen 1,3:1,6—1,7 μ. Die obere Faser läßt im weniger kontrahierten Teil neben schmalen leuchtenden, also stark aschehaltigen Streifen regelmäßig noch feinere Schichten anorganischer Substanz mitten im breiteren dunklen Band erkennen, angedeutet ist dieses Verhalten auch noch in der kontrahierten Hälfte der breiten Faser.

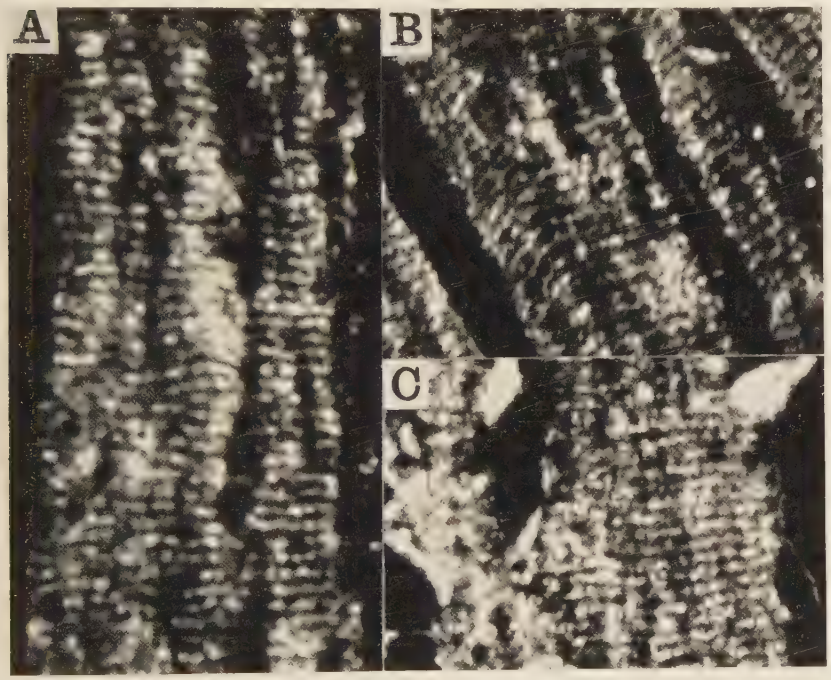

Abb. 8. Herz, Ratte; Triebmuskulatur längs. Alkoholfixation. 3 μ. Aschenbilder nach Verbrennung in Luft bei 650° C. Vergr. 1600fach. Wechselnde Bilder der Aschenverteilung in verschieden stark verkürzten Muskelfasern. Reich an anorganischer Substanz sind vor allem die Kontraktionsstreifen.

Einige weitere Aufnahmen veraschter Herzmuskelfasern mit scharfer Ausprägung der Querstreifung, die zum Zwecke einer genaueren Analyse hergestellt wurden, sind in der Abb. 8 bei 1600facher Vergrößerung wiedergegeben. Die erheblichen Unterschiede in der Aschenverteilung treten darin deutlich hervor. In der linken Bildhälfte (Abb. 8 A) finden sich mehrere Fasern im selben Verkürzungszustand, aschehaltige und aschefreie Bänder wechseln in regelmäßiger Folge, die einzelnen Muskelfächer sind 1,3 μ hoch. In Abb. 8 B sind die Muskelfächer mit 1,35 μ nur unbedeutend höher, gleichwohl erscheint das Bild wesentlich verschieden, da die aschehaltigen Streifen viel schmaler sind als in

Abb. 8A und an einigen Stellen auch noch Reste feiner streifenförmiger Ascheablagerungen mitten im sonst aschefreien Teil vorkommen. Die niedrigsten Muskelfächer hat mit 1,2 μ durchschnittlicher Höhe die in Abb. 8C wiedergegebene Faser, hier wechseln regelmäßig aschehaltige und aschefreie Lagen miteinander ab. Alle diese Bilder geben Muskelfasern im Zustand ziemlich starker Verkürzung wieder.

Im veraschten Herzmuskelpräparat findet man daneben aber auch Stellen, die die Querstreifung nur unscharf erkennen lassen. Nach dem Vergleich mit benachbarten Kontrollschnitten handelt es sich dabei teils um körnchenreiche »trübe« Muskelfasern, teils um Fasern mit besonders hohen Segmenten. Eine sichere Querstreifungsanalyse solcher Fasern gelang in einem Fall, der 2,8 μ hohe Segmente aufweist; 0,8 μ hohe aschenfreie und 2 μ hohe aschenhaltige Teile wechseln dort miteinander ab. Der nach Erhitzung auf 650° C aschenfreie Teil entspricht *IZI*, die Zwischenscheibe ist hier also auch frei von organischen Substanzen; die Querscheibe *Q* ist von breiten Aschenlagen dargestellt, die meistens in zwei parallele Reihen gegliedert sind. Zwischen diesen bleibt ein schmaler Streifen frei von anorganischer Substanz, der wahrscheinlich mit dem Hensenschen Streifen übereinstimmt.

Im ganzen können also durch die vorliegenden Befunde die früheren Feststellungen von Tschopp, Scott und Kruszyński bestätigt werden. Von grundsätzlicher Wichtigkeit ist die Beobachtung der Verlagerung von Salzen durch den zur Fixation gebrauchten absoluten Alkohol. Neu ist ferner der Nachweis, daß offenbar in gewissen Phasen des Verkürzungsvorganges eine Verlagerung der aschegebenden Bestandteile eintritt, denn die in *Q* vorhandene Menge anorganischer Substanzen nimmt mit steigender Kontraktion deutlich ab, während die in der Zwischenscheibe festzustellenden anorganischen Stoffe bei deren Umwandlung zum Kontraktionsstreifen zunehmen. Auf weitere, vielleicht mit dieser Umlagerung von anorganischen Substanzen zusammenhängende Erscheinungen wird bei der Auswertung der Befunde noch hinzuweisen sein.

Auswertung der Befunde.

Die überraschende Feststellung, daß in den Reizleitungsfasern des Kalbsherzens nicht nur das Glykogen, sondern auch das Kalium (und möglicherweise noch andere aschegebende Substanzen) die Erscheinung der »Alkoholflucht« zeigen, hat die Vermutung eines besonderen Zustandes des Kaliums sowie engerer Beziehungen zwischen dem Glykogen

und dem Kalium aufkommen lassen. Die Wahrscheinlichkeit, daß diese Annahme richtig ist, wird noch durch die weitere neu erwiesene Tatsache erhöht, daß auch in der Triebmuskulatur des Herzens Glykogen und Kalium an genau den gleichen Orten liegen. Zu beachten bleibt dabei, daß sich die Feststellung des Kaliums in erster Linie auf das gebundene, nicht dagegen auf das in ionisierter Form vorhandene Kalium bezieht, da dieses in den fixierten Präparaten wohl kaum noch erhalten geblieben ist; es soll auch keineswegs behauptet werden, daß alles im Muskel gebundene vorhandene Kalium in Beziehung zum Glykogenstoffwechsel steht.

Die auf Grund histochemischer Befunde im Herzen erschlossene engere Beziehung zwischen dem Kalium und dem Glykogen findet einige interessante Parallelen im physiologisch-chemischen Schrifttum. Nach Bruman und Jenny (1936) ist im trainierten Skeletmuskel der Kaliumgehalt um 6—20% höher als im untrainierten Muskel von der anderen Körperseite desselben Tieres. Im trainierten Skeletmuskel ist aber unter anderem auch die Glykogenmenge vermehrt und der Phosphatgehalt erhöht, wie Brumann und Jenny erwähnen. Engere Beziehungen zwischen dem Kalium- und dem Kohlehydratstoffwechsel haben die genannten Autoren für die Deutung ihrer Beobachtungen anscheinend nicht angenommen, dagegen sind solche in den etwa gleichzeitig mit der vorliegenden Bearbeitung ausgeführten physiologisch-chemischen Untersuchungen von Verzár und seinen Mitarbeitern klargestellt. Die aus den histochemischen Befunden erschlossenen Vermutungen haben damit eine schöne Bestätigung durch chemisch-analytische Feststellungen erfahren.

Verzár (1940) hat auf der 120. Versammlung der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft in Locarno die Ergebnisse seiner Studien über Beziehungen zwischen dem Kohlehydrat- und dem Kaliumstoffwechsel zusammengefaßt. Die liebenswürdige Überlassung seiner Vortragsniederschrift, für die auch an dieser Stelle nochmals gedankt sei, ermöglicht mir, einige seiner Schlußsätze hier folgen zu lassen. Verzár kommt zu der Feststellung, »daß jede Glykogenbildung mit der Bindung von Kalium und jeder Glykogenzerfall mit dem Freiwerden von Kalium verbunden ist. Deshalb gibt z. B. der Muskel bei Kontraktion Kalium ab. Dabei handelt es sich wahrscheinlich zuerst um eine intermediäre Bildung des Kaliumsalzes der Hexosephosphorsäure. Daraus allerdings, daß die Zellen auch später noch Kalium in gebundener Form enthalten, muß man folgern, daß es von hier weiter bis an einen kolloidalen, nicht diffusiblen Träger, eventuell das Glykogen selbst, verankert wird.«

Wie Verzár schon nachweisen konnte, beschränken sich diese Zusammenhänge zwischen dem Glykogen und dem Kalium nicht nur auf das Muskelgewebe, auch bei Untersuchungen an Hefezellen (Pulver 1940) hat sich eine enge Koppelung des Kalium- und des Kohlehydratstoffwechsels nachweisen lassen, so daß eine allgemein gültige und weit verbreitete Beziehung vorzuliegen scheint. Aus histochemischen Arbeiten können dazu gleichfalls einige Befunde angeführt werden, die stark positive Reaktion auf Polysaccharide und auf Kalium am selben Ort aufweisen. Das gilt z. B. für den Schleim der Becherzellen in den

Atemwegen und in den Verdauungsorganen sowie in den mukösen Speicheldrüsen (positiver Kaliumnachweis durch Hintzsche 1935, positive Polysaccharidreaktion nach Bauer durch Pasteels und Léonard 1935 und durch Hintzsche und Anderegg 1938), es gilt ferner für mukoide Stoffe z. B. in der Knorpelgrundsubstanz und auch für die Knorpelzellen selbst, in denen positive Bauersche Reaktion durch Gendre (1938) und hoher Kaliumgehalt durch Hintzsche und Wermuth (1932) nachgewiesen ist. Diese aus histochemischen Arbeiten angeführten Beispiele zeigen also ebenso wie die analytisch-chemischen Untersuchungen, daß Befunde über engere Beziehungen zwischen Kohlehydrat- und Kaliumstoffwechsel häufig sind, so daß wohl von einem allgemeingültigen Verhalten gesprochen werden kann.

Ob neben dem Kalium auch noch andere Ionen — etwa das von Scott und Packer (1939) im *Q*-Streifen nachgewiesene Calcium und Magnesium — in ähnlicher Weise an den Kohlehydratstoffwechsel gekoppelt sind, ist vorerst nicht mit Sicherheit zu bestimmen, Scott deutet jedenfalls für das Magnesium eine solche Möglichkeit nach Untersuchungen von Colowick und Cori an. Die Alkoholflucht der aschegebenden Substanzen im Reizleitungssystem und die während der Muskeltätigkeit auftretenden regelmäßigen Änderungen der Ascheverteilung könnten auf solche Beziehungen hinweisen.

Bei dem außerordentlich hohen Kaliumgehalt der Muskulatur wird aber, selbst wenn nach Erhitzung auf 650° C mit der Möglichkeit einer teilweisen Verflüchtigung des Kaliums gerechnet werden muß, der größte Teil der Gesamtasche von den Kaliumsalzen gebildet werden, das Aschebild muß dann bis zu einem gewissen Grad identisch mit dem Bilde der Kaliumanordnung sein, was nach den Befunden wirklich der Fall ist. Bleibt also die Frage nach der Mitwirkung anderer Ionen am Kohlehydratstoffwechsel hier offen, so kann doch noch auf eine weitere auffällige Besonderheit in den Aschenbildern hingewiesen werden. Als aschehaltig haben sich erwiesen: der anisotrope *Q*-Streifen, in gewissen Phasen der Verkürzung daneben auch noch die Zwischenscheibe und bei maximaler Zusammenziehung endlich nur der Kontraktionsstreifen. Diese während der Verkürzung erfolgende Änderung der Aschenanordnung läßt Beziehungen zum Lichtbrechungsvermögen der Muskelbestandteile erkennen. Die Querscheibe wird bekanntlich bei Kontraktion schwächer lichtbrechend, die Zwischenscheibe bzw. der Kontraktionsstreifen nehmen dagegen mit steigender Verkürzung an Lichtbrechungsvermögen beträchtlich zu. Die Änderung der Aschenanordnung erfolgt also ganz gleichsinnig mit dem Wechsel des Lichtbrechungsvermögens: je höheren Aschengehalt eine Schicht des Muskelsegmentes hat, um so stärker ist auch ihr Lichtbrechungsvermögen.

Zusammenfassung.

1. In den Reizleitungsfasern des Herzens (Kalb) tritt nach Alkoholfixation eine ausgiebige Verschiebung des Glykogens ein. Trotzdem bleibt das Querstreifungsbild noch erkennbar; das Glykogen liegt teils in den Zwischenscheiben bzw. den Kontraktionsstreifen, teils in der anisotropen Querscheibe.

2. In der Triebmuskulatur des Herzens (Ratte, Meerschweinchen) kommt Glykogen in der Zwischenscheibe bzw. im Kontraktionsstreifen und im anisotropen Querstreifen vor, es ist jedoch niemals gleichzeitig und nebeneinander in den genannten Streifen nachzuweisen.

3. Kalium erfährt in den sarkoplasmareichen Reizleitungsfasern des Kalbsherzens die gleiche Verlagerung wie Glykogen. Sowohl in den Reizleitungsfasern wie in der Triebmuskulatur findet sich das Kalium in den Zwischenscheiben bzw. in den Kontraktionsstreifen und in den anisotropen Querstreifen.

4. Veraschte Schnitte der Reizleitungsfasern des Kalbsherzens zeigen nach Alkoholfixation die gleiche Verschiebung der anorganischen Substanzen wie Präparate zum Glykogen- und zum Kaliumnachweis. In oberflächennahen Gebieten kann es auch zu Verschiebung der aschegebenden Teile in den Triebmuskelfasern kommen. Hohen Aschegehalt haben in den Reizleitungsfasern die Kontraktionsstreifen. In der Triebmuskulatur ist im entspannten Zustand die anisotrope Querscheibe reich an anorganischer Substanz, in mäßig kontrahierten Stellen hinterlassen die Zwischenscheiben und die an Breite verringerten Querstreifen reichlich Asche, bei größtmöglicher Verkürzung ist nur der Kontraktionsstreifen aschereich.

5. Aus der übereinstimmenden Lage von Glykogen und Kalium in der Triebmuskulatur und der gleichsinnigen Verschiebung beider Stoffe in den Reizleitungsfasern wird auf eine engere Beziehung zwischen Kalium und Glykogen geschlossen. Diese Annahme findet ihre Bestätigung durch die physiologisch-chemischen Untersuchungen von Verzár (1940) und seinen Mitarbeitern.

6. Die im Aschenbild nachweisbare verschiedene Verteilung der anorganischen Substanzen muß als Folge einer Umlagerung während des Verkürzungsvorganges angesehen werden. Die Änderung der Aschenanordnung tritt gleichsinnig mit dem Wechsel des Lichtbrechungsvermögens ein: je höheren Aschengehalt eine Schicht des Muskelsegmentes hat, um so stärker ist auch ihr Lichtbrechungsvermögen.

Schrifttum.

Arnold, J.: SB. Heidelb. Ak. Wiss. **1909**. — **Bauer, H.:** Z. mikrosk.-anat. Forsch. **33** (1933). — **Bethe:** Diskussionsbemerkung zu Gans. Klin. Wschr. **1932 I**. — **Blume, H.:** Zieglers Beitr. **93** (1934). — **Bruman, F.** und **Jenny, F.:** Arb. physiol. angew. Ent. **9** (1936). — **Bureau, V.:** Arch. internat. Physiol. **45** (1937). — **Fenn, O. W.:** Amer. J. Physiol. **120** (1937). — **Feyel, Th.:** C. R. Soc. Biol. Paris **128** (1938). — **Gendre, H.:** Bull. Histol. appl. **15** (1938). — **Häggqvist, G.:** In: v. Möllendorff, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen **2**, 3. J. Springer, Berlin 1931. — **Herrmann, F.:** Z. Mikrosk. **49** (1932). — **Hintzsche, E.:** Z. mikrosk.-anat. Forsch. **38** (1935). — Ergebn. Anat. Entw. **32** (1938). — **Hintzsche, E.** und **Anderegg, P.:** Z. mikrosk.-anat. Forsch. **43** (1938). — **Hintzsche, E.** und **Wermuth, H.:** Z. mikrosk.-anat. Forsch. **28** (1932). — **Keller, R.:** Die Elektrizität in der Zelle. J. Kittls Nachf., Mährisch-Ostrau, 1932. — **Kruszyński, J.:** Z. Zellforsch. **28** (1938). — **Liesegang, R. E.:** Z. Mikrosk. **57** (1940). — **Lison, L.:** Histochimie animale. Gauthier-Villars, Paris 1936. — **Macallum, A. B.:** J. Physiol. London **32** (1905). — Ergebn. d. Physiol. **7** (1908). — Austral. J. exp. Biol. **9** (1932). — **Marza, V. D.:** Bull. Histol. appl. **13** (1936). — **v. Möllendorff, W.:** Lehrbuch der Histologie, 24. Aufl. G. Fischer, Jena 1940. — **Mönckeberg, J. G.:** In: Henke und Lubarsch, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie **2**. J. Springer, Berlin 1924. — **Neukirch, P.:** Virchows Arch. **200** (1910). — **Noll, A.** und **Becker, M.:** Virchows Arch. **296** (1936). — **Pasteels, J.** und **Léonard, G.:** Bull. Histol. appl. **12** (1935). — **Plenk, H.:** Histologischer Atlas von Zupfpräparaten unfixierter menschlicher Organe und Gewebe. J. Springer, Wien 1928. — **Pulver, R.:** Verh. Ver. Schweiz. Physiol. Januar 1940. — **Rojas, P.** und **Resta, L.-S.:** C. R. Soc. Biol. Paris **127** (1938). — **Schabadasch, A. L.:** Bull. Biol. et Méd. expér. URSS. 8 (1939). — **Schulze, W.** und **Zschau, H.:** Frankf. Z. Pathol. **48** (1935). — **Scott, G. H.:** Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **29** (1932). — Amer. J. Anat. **53** (1933). — **Scott, G. H.** und **Packer, D. M.:** Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **40** (1939). — Anat. Rec. **74** (1939). — **Somogyi, J. C.:** Verh. Ver. Schweiz. Physiol. Januar 1940. — **Somogyi, J. C.** und **Verzár, F.:** Helv. med. acta **8** (1940). — **v. Studnitz, G.:** Z. Zellforsch. **23** (1936). — **Tschopp, E.:** In: v. Möllendorff, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen **1**, 1. J. Springer, Berlin 1929. — **Verzár, F.:** Verh. Schweiz. naturf. Ges. Locarno 1940. — **Wallraff, J.** und **Beckert, H.:** Z. mikrosk.-anat. Forsch. **45** (1939).